

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: 06206832 A

(43) Date of publication of application: 26.07.94

(51) Int. Cl.

A61K 47/30  
C08G 65/32  
C08G 69/10

(21) Application number: 05261125

(22) Date of filing: 19.10.93

(30) Priority: 27.10.92 JP 04311417

(71) Applicant: NIPPON KAYAKU CO  
LTDSAKURAI YASUHISA RES.  
DEV CORP OF JAPAN

(72) Inventor: YOKOYAMA MASAYUKI  
KATAOKA KAZUNORI  
OKANO MITSUO  
SAKURAI YASUHISA  
SETO TAKASHI  
FUKUSHIMA SHIGETO  
MACHIDA MEGUMI  
YAMADA YOSHIMI  
UEHARA TAKAHARU

(54) POLYMERIC CARRIER

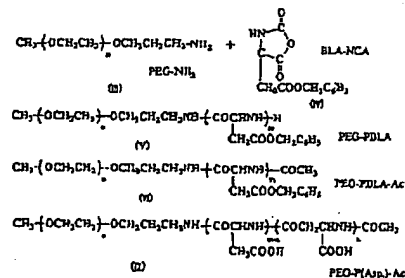
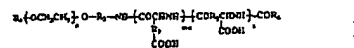
(57) Abstract:

PURPOSE: To provide such a polymeric carrier that, in binding a hydrophobic substance to the polyamino acid structural segment of a block copolymer, undesirable binding to this copolymer can be avoided, thus having high solubility and excellent in micelle-forming ability and to be used for carrying medicines.

CONSTITUTION: The polymeric carrier consisting of a block copolymer having structure of formula I ( $R_1$  is H or lower alkyl;  $R_2$  is binding group;  $R_3$  is methylene or ethylene;  $R_4$  is lower alkyl or aromatic hydrocarbon;  $n$  is 5-1000;  $m$  is 2-300;  $x$  is 0-300; where,  $x < m$ ). The compound of the formula, e.g. a compound of formula II, can be obtained by the following process: from a compound of formula III and a compound of formula IV, a compound of formula V is produced, and via a compound of formula V and a compound VI, successively. Another version of the polymeric carrier is a block copolymer (or a salt thereof) where a hydrophobic substance has been bound to, through reaction with, the carboxyl group of the compound of the formula I; this block copolymer (salt) is used as a polymeric carrier for medicine carriers excellent in micelle-forming ability. Use of the compound of the formula I in obtaining the latter

block copolymer can prevent side reactions, thus facilitating the synthesis of the latter block copolymer.

COPYRIGHT: (C)1994,JPO&amp;Japio



(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-206832

(43)公開日 平成6年(1994)7月26日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	FI	技術表示箇所
A 6 1 K 47/30	B	7433-4C		
C 0 8 G 65/32	NQ J	9167-4J		
69/10	NSP	9286-4J		

審査請求 未請求 請求項の数5 OL (全6頁)

(21)出願番号 特願平5-261125  
(22)出願日 平成5年(1993)10月19日  
(31)優先権主張番号 特願平4-311417  
(32)優先日 平4(1992)10月27日  
(33)優先権主張国 日本(JP)

(71)出願人 000004086  
日本化薬株式会社  
東京都千代田区富士見1丁目11番2号  
(71)出願人 591265312  
桜井 靖久  
東京都杉並区永福3-17-6  
(71)出願人 390014535  
新技術事業団  
埼玉県川口市本町4丁目1番8号  
(72)発明者 横山 昌幸  
千葉県松戸市新松戸3-170、MBSハイ  
ツB-201  
(74)代理人 弁理士 川口 義雄 (外2名)  
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 高分子担体

(57)【要約】

【目的】 ブロック共重合体のポリアミノ酸構造部分に疎水性物質を結合する場合に、ブロック共重合体間の望ましくない結合をさけることができる高分子担体及び、該高分子担体に疎水性物質を結合させた高い溶解性を持つミセル形成能の優れた薬物運搬体となる高分子担体を提供すること。

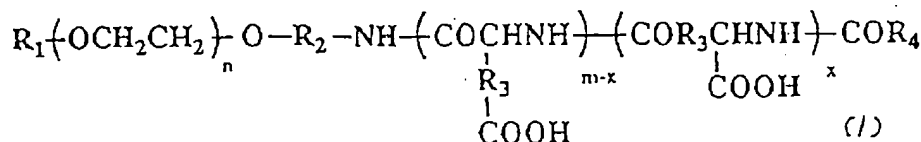
【構成】 ポリエチレングリコール構造部分とポリアミノ酸構造部分とを有するブロック共重合体中の末端アミノ基が修飾されている高分子担体。ポリエチレングリコール構造部分とポリアミノ酸構造部分とを有するブロック共重合体中の末端アミノ基が修飾されておりかつカルボキシル基が疎水性物質と反応し疎水性物質がブロック共重合体に結合している、ミセル形成能の優れた薬物運搬体となる高分子担体。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式(1)の構造又はその塩構造を有する\*

\*ブロック共重合体からなる高分子担体。

【化1】



(式中、 $R_1$  は低級アルキル基又は水素を表し、 $R_2$  は結合基を表し、 $R_3$  はメチレン基又はエチレン基を表し、 $R_4$  は低級アルキル基あるいは芳香族炭化水素基を表す。 $n$ は5~1,000、 $m$ は2~300、 $x$ は0~300の整数を示すが、 $x$ は $m$ より大きくないものとする。)

【請求項2】 請求項1の式(1)のカルボキシル基に疎水性物質が反応して結合しているブロック共重合体又はその塩からなる、ミセル形成能の優れた薬物運搬体となる高分子担体。

【請求項3】  $R_1$  がメチル基である請求項1又は2記載の高分子担体。

【請求項4】  $R_2$  が炭素数2~4のアルキレン基である請求項1、2又は3記載の高分子担体。

【請求項5】  $R_4$  がメチル基である請求項1、2、3又は4記載の高分子担体。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、薬物を運搬する際に使用できる高分子担体に関する。

【0002】

【従来の技術】ミセル形成性両親媒性ブロック共重合体は公知であるが、多くの場合構造の不明確なものが多く、製造過程でのブロック共重合体どうしの反応により※

※多くの副反応物が生じ、期待する構造の薬物運搬体を得られないことがあった。

10 【0003】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、ブロック共重合体のポリアミノ酸構造部分に疎水性物質を結合する場合に、ブロック共重合体間の望ましくない結合をさけることができる高分子担体及び、該高分子担体に疎水性物質を結合させた高い溶解性を持つミセル形成能の優れた薬物運搬体となる高分子担体を提供することを目的とする。

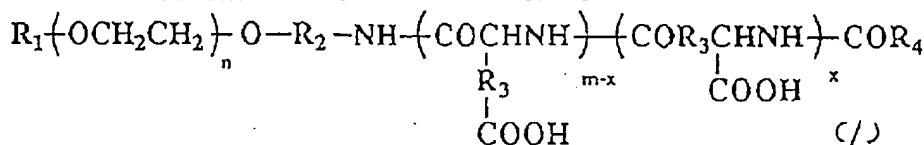
【0004】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、従来のミセル形成性両親媒性ブロック共重合体を作製する際の問題を解決するために鋭意検討した結果、特定の構造を有するブロック共重合体に疎水性物質等を結合させるに際し、あらかじめブロック共重合体の末端アミノ基を修飾することにより、ブロック共重合体どうしの結合をさけることが出来、溶解性の向上したミセル形成性薬物運搬体を得られることを見だし本発明を完成した。

【0005】即ち、本発明は、(1) 式(1)の構造又はその塩構造を有するブロック共重合体からなる高分子担体、

30 【0006】

【化2】



【0007】(式中、 $R_1$  は低級アルキル基又は水素を表し、 $R_2$  は結合基を表し、 $R_3$  はメチレン基又はエチレン基を表し、 $R_4$  はメチル基、エチル基等の低級アルキル基あるいはフェニル基等の芳香族炭化水素基を表す。 $n$ は5~1,000、 $m$ は2~300、 $x$ は0~300の整数を示すが、 $x$ は $m$ より大きくないものとする。)(2) 上記(1)の式(1)のカルボキシル基に疎水性物質が反応して結合しているブロック共重合体又はその塩からなる、ミセル形成能の優れた薬物運搬体となる高分子担体、(3)  $R_1$  がメチル基である上記(1)又は(2)記載の高分子担体、(4)  $R_2$  が炭素数2~4のアルキレン基である上記(1)、(2)又は(3)記載の高分子担体、(5)  $R_4$  がメチル基である上記(1)、(2)、(3)又は(4)記載の高

分子担体、に関する。

【0008】本発明によれば、高分子担体のカルボキシル基に疎水性物質を結合する際に高分子担体間の望ましくない結合反応を避けることが出来、その結果高い溶解性を持つミセル形成能の優れた薬物運搬体を得ることができる。

【0009】以下、本発明について詳細に説明する。

【0010】塩としては、ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩等が挙げられ、特に限定されない。

【0011】本発明の高分子担体は、水溶性である限りその分子量は特に限定されないが、好ましくは1000~100000、特に好ましくは5000~50000である。ブロック共重合体中のポリエチレングリコール構造部分とポリアミノ酸構造部分の割合は高分子担体の

水溶性が保たれる限り特に限定されないが、好ましくは1:0.1~10(重量比)、特に好ましくは1:0.2~5(重量比)である。

【0012】前記式(1)の高分子担体において、 $R_1$ は低級アルキル基又は水素を表すが、好ましいものはメチル基である。また、 $R_2$ は本発明の高分子担体の水溶性を損なわない限り特に限定されず、ポリエチレングリコール構造部分の末端にポリアミノ酸構造部分を形成させる際、ポリエチレングリコール構造部分を構成することになる化合物の末端を該形成に適した構造に変換させるために使用した方法及び化合物に対応した構造をとり、例えばメチレン基( $-\text{CH}_2-$ )、エチレン基( $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ )、プロピレン基( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ )、トリメチレン基( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ )、イソブチレン基( $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$ )等の炭素数1~8、好ましくは、炭素数2~4のアルキレン基等が挙げられるが、特に限定されない。

【0013】 $R_3$ は、高分子担体の水溶性を損なわない限り特に限定されず、低級アルキル基やフェニル基などがあげられるが、特に好ましいものはメチル基である。又、 $n$ は5~1,000であるが、好ましくは15~400であり、 $m$ は2~300であるが、好ましくは10~100であり、 $x$ は0~300であるが、好ましくは0~100である。

【0014】高分子担体は種々の方法により製造することが出来る。例えば次のようにして製造することが出来る。即ち、ポリエチレングリコール構造部分を構成することになる化合物の末端を必要により変性する。この変性は、公知の方法によって行うことができ、例えば水酸基をアミノ基に変換する方法として、エチレンジアミンを反応させる方法、アクリロニトリルやメタアクリロニトリルをマイケル付加後、ニトリル基を還元しアミノ基に変換する方法、水酸基をハロゲン基に置換した後、エタノールアミン等のアルコールアミンを反応する方法、又水酸基を直接ニトリル基に変換後、還元しアミノ基に変換する方法等で行うことが出来る。ポリエチレングリコール構造部分を構成することになる化合物又はその末端を変性したものとグルタミン酸又はアスパラギン酸又はその誘導体のモノマーを反応させブロック共重合体を得る。

【0015】その後ブロック共重合体中のアミノ基に種々の保護基を導入して修飾する。アミノ基への保護基の導入は公知の方法に準じて行うことが出来、例えば、塩化アセチル等の酸ハロゲン化物又は無水酢酸等の酸無水物を用いたアシル化による方法、アミンとアルデヒドとの反応でシッフ塩基を生成させた後シッフ塩基を還元する方法、ハロゲン化アルキルを用いたアルキル化による方法、アミンに二重結合を持つ化合物を付加する方法、エポキシ化合物を用いた開環付加反応による方法等が挙げられる。

【0016】アミノ基を修飾する保護基としては、メチル基、エチル基、プロピル基、アセチル基、ベンゾイル基等公知の方法で導入可能な種々のものが挙げられる。

【0017】その後カルボキシル基に保護基を含むものは保護基を除去することにより前記(1)の高分子担体が得られる。保護基を除去する方法は、アルカリによる方法、酸による方法及び還元法で可能である。アルカリ法で用いるアルカリ性物質としては、カセイソーダ、カセイカリ、ヒドラジン、アンモニア等通常のアルカリ性物質を用いることが出来る。酸法で用いる酸性物質としては、トリフルオロメタンスルホン酸、メタンスルホン酸、トリフルオロ酢酸、酢酸、ギ酸、フッ化水素酸、臭化水素酸、塩化水素酸等の通常の酸性物質を用いることができる。又副反応を防止するため、アニソール、チオアニソール、 $m$ -クレゾール、 $o$ -クレゾール等を加えることも出来る。還元法としては、接触還元法、接触水素移動還元法等一般的な方法を用いることが出来る。このようにして得られる前記(1)の高分子担体に疎水性物質を結合させることによりミセル形成性薬物運搬体(前記(2)の高分子担体)が得られる。

【0018】前記(1)の高分子担体のカルボキシル基に反応させる疎水性物質としては、芳香族アミン、脂肪族アミン、芳香族アルコール、脂肪族アルコール、芳香族チオール、脂肪族チオール等が挙げられるが、アドリアマイシン、ダウノマイシン、エトポシド等の薬剤を疎水性物質として用いることも出来る。これらの疎水性物質はカルボキシル基と反応し、エステル結合又はアミド結合等を形成することによりブロック共重合体に結合する。これらの反応は、公知のエステル化又はアミド化等の常法に従って行なうことができる。

【0019】例えば、前記(1)の高分子担体にアミド結合で疎水性物質を結合させる際、反応はペプチド結合生成法として知られる常法に準じて行うことができる。例えば、酸ハロゲン化物法、酸無水物法、カップリング法等が使用できるが、縮合剤を使用するカップリング法が望ましい。縮合剤としては、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)、1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩(EDC·HCl)、ジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)、カルボニルジイミダゾール(CDI)、1-エトキシカルボニル-2-エトキシ-1,2-ジヒドロキシキノリン(EDDQ)、ジフェニルホスホリルアジド(DPPA)等が使用できる。縮合剤は、疎水性物質に対して0.5~20倍モル用いるのが好ましく、特に1~10倍モル用いるのが好ましい。またこの際、 $N$ -ヒドロキシサクシニイミド(HONSu)、1-ヒドロキシベンゾトリアゾール(HOBT)、 $N$ -ヒドロキシ-5-ノルボルネン-2,3-ジカルボン酸イミド(HONB)等を共存させてもよい。

【0020】疎水性物質の使用量は特に限定されない

が、通常前記(1)の高分子担体のカルボキシル基1当量に対し、0.1~2モル用いる。

【0021】縮合反応は溶媒中で行うのが好ましく、溶媒としては、例えば、N,N-ジメチルホルムアミド(DMF)、ジメチルスルホキシド(DMSO)、ジオキサン、テトラヒドロフラン(THF)、水及びそれらの混合溶媒等種々のものが使用でき、特に限定されない。溶媒の使用量は特に限定されないが、通常前記(1)の高分子担体に対して1~500重量倍用いる。

【0022】縮合反応は、-10~40℃で行うのが好ましく、特に、-5~30℃で行うのが好ましい。反応は2~48時間行えば十分である。

【0023】例えば上記のようにして得られる前記(2)の高分子担体において、疎水性物質は前記(1)の高分子担体の全カルボキシル基の1%以上のカルボキシル基と反応し結合していることが好ましく、特に5%以上のカルボキシル基と反応し結合していることが好ましい。

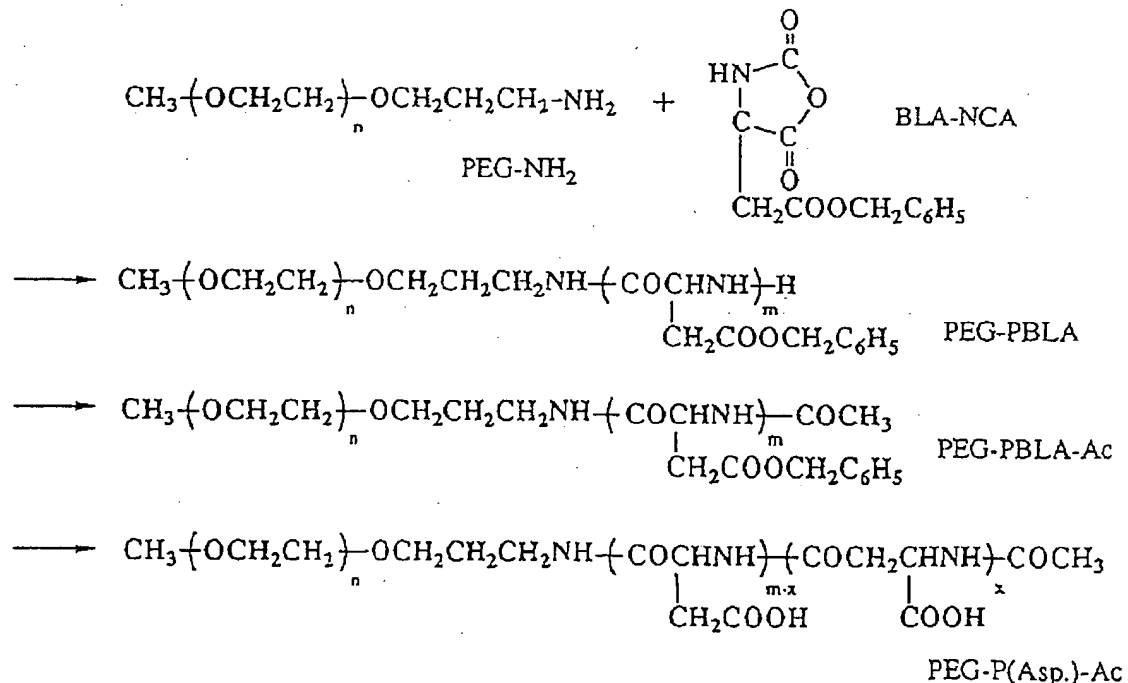
【0024】以下に、ポリエチレングリコール構造部分とボリアスバラギン酸構造部分とからなるブロック共重合体で、ボリアスバラギン酸構造部分の末端のアミノ基をアセチル基で修飾した高分子担体を例にとり、その合成法を詳しく述べる。

【0025】この高分子担体の合成は、以下の反応式に示すごとくβ-ベンジル-L-アスパルテート-N-カルボン酸無水物(BLA-NCA)を、片末端にメキシ基を有し、他の片末端に3-アミノプロピル基を有す\*

\* するポリエチレングリコール(PEG-NH<sub>2</sub>) (好ましくは分子量250~20,000)を開始剤として、ジメチルホルムアミド、ジメチルスルホキシド、ジオキサン、クロロホルム、テトラヒドロフラン、アセトニトリル等の溶媒中で開環重合させ、ポリエチレングリコール-ポリ(β-ベンジル-L-アスパルテート)ブロック共重合体(PEG-PBLA)を得、次いでこの重合溶液に無水酢酸とピリジン、トリエチルアミン等の第三級アミンを加え末端のアミノ基をアセチル基で修飾し、ポリエチレングリコール-ポリ(β-ベンジル-L-アスパルテート)ブロック共重合体N-アセチル化物(PEG-PBLA-Ac)を得る。このPEG-PBLA-Acのベンジルエステルを加水分解してポリエチレングリコール-ボリアスバラギン酸ブロック共重合体N-アセチル化物(PEG-P(Asp.)-Ac)を得る。また末端のアミノ基の修飾は、ポリエチレングリコール-ポリ(β-ベンジル-L-アスパルテート)ブロック共重合体(PEG-PBLA)を得、次いでこのPEG-PBLAのベンジルエステルを加水分解してポリエチレングリコール-ボリアスバラギン酸ブロック共重合体(PEG-P(Asp.))を得た後、無水酢酸とトリエチルアミン等の第三級アミンを加え末端のアミノ基をアセチル基で修飾し、ポリエチレングリコール-ボリアスバラギン酸ブロック共重合体N-アセチル化物(PEG-P(Asp.)-Ac)を得ることも出来る。

【0026】

【化3】



【0027】(式中、nは5~1,000、mは2~3500、xは0~300の整数を示すが、xはmより大き

くないものとする。)

【0028】本発明の(1)の高分子担体は疎水性物質を結合させるに際し、高分子担体相互間の望ましくない結合を防止し高い溶解性を持つ薬物運搬体が得られるものである。

【0029】

【実施例】次に実施例により本発明を具体的に説明する。

【0030】実施例1

β-ベンジル-L-アスパルテート-N-カルボン酸無水物(BLA-NCA)5.7gをN,N'-ジメチルホルムアミド(DMF)60mlに溶解する。片末端メトキシ基片末端3-アミノプロピル基のポリエチレングリコール(PEG-NH<sub>2</sub>) (分子量5,100)4.0gをDMF40mlに溶解し、その溶液をBLA-NCA溶液に加える。得られた溶液を35℃に保ちながら40時間重合した。HPLC分析で重合反応が終了したことを確認した後、無水酢酸50ml、ピリジン2.5gを加え室温で2時間反応する。反応混合物をイソプロピルエーテル2リットルに滴下して沈澱したポリマーを濾過で回収し、イソプロピルエーテルで洗浄した後に真空乾燥してポリエチレングリコール-ポリ(β-ベンジル-L-アスパルテート)ブロック共重合体N-アセチル化物(PEG-PBLA-Ac)8.03gを得た。H-NMR(CDCI<sub>3</sub>, +CH<sub>3</sub>OD)分析によりN-アセチル基のメチルプロトン(2.01ppm)と片末端メトキシ基のメチルプロトン(3.35ppm)とのピーク比よりアミノ基が完全にアセチル基で修飾されていることを確認した。

【0031】PEG-PBLA-Ac 7.0gを0.5N水酸化ナトリウムに懸濁しながら室温でベンジルエステルを加水分解する。PEG-PBLA-Acが溶解した後、酢酸でpHを酸性とし、透析膜(分画分子量=1,000)を用いて水中で透析する。膜内の溶液を凍結乾燥してポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体N-アセチル化物(PEG-P(Asp.)-Ac)4.44g(収率79%)を得た。H-NMR(D<sub>2</sub>O)分析によりN-アセチル基のメチルプロトン(1.75ppm)と片末端メトキシ基のメチルプロトン(3.22ppm)とのピーク比よりアミノ基が完全にアセチル基で修飾されていることを確認した。

【0032】実施例2

β-ベンジル-L-アスパルテート-N-カルボン酸無水物(BLA-NCA)5.7gをN,N'-ジメチルホルムアミド(DMF)60mlに溶解する。片末端メトキシ基片末端3-アミノプロピル基のポリエチレングリコール(PEG-NH<sub>2</sub>) (分子量5,100)4.0gをDMF40mlに溶解し、その溶液をBLA-NCA溶液に加える。重合溶液を35℃に保ちながら40

時間重合した。HPLC分析で重合反応が終了したことを確認した後、反応混合物をイソプロピルエーテル2リットルに滴下して沈澱したポリマーを濾過で回収し、イソプロピルエーテルで洗浄した後に真空乾燥してポリエチレングリコール-ポリ(β-ベンジル-L-アスパルテート)ブロック共重合体(PEG-PBLA)7.99g(収率92.1%)を得た。PEG-PBLA7.0gを0.5N水酸化ナトリウムに懸濁しながら室温でベンジルエステルを加水分解する。PEG-PBLAが溶解した後、酢酸でpHを酸性とし、透析膜(分画分子量=1,000)を用いて水中で透析する。膜内の溶液を凍結乾燥してポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体(PEG-P(Asp.))4.44g(収率79%)を得た。PEG-P(Asp.)1.0gを無水酢酸20mlに懸濁しトリエチルアミン2mlを加え室温で10分間反応する。反応後、酢酸でpHを酸性とし、透析膜(分画分子量=1,000)を用いて水中で透析する。膜内の溶液を凍結乾燥してポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体N-アセチル化物(PEG-P(Asp.)-Ac)0.54gを得た。H-NMR(D<sub>2</sub>O)分析によりN-アセチル基のメチルプロトン(1.75ppm)と片末端メトキシ基のメチルプロトン(3.22ppm)とのピーク比よりアミノ基が完全にアセチル基で修飾されていることを確認した。

【0033】実施例3

実施例1で得たポリエチレングリコール-ポリアスパラギン酸ブロック共重合体N-アセチル化物(PEG-P(Asp.)-Ac)195mgを水0.5mlに溶解する。ステアリルアミン54mgをDMF5mlに懸濁し、(PEG-P(Asp.)-Ac)水溶液を加える。この混合溶液に1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド(EDC)72μl、N-ヒドロキシサクシンイミド(HONSu)28mgを加え、室温で24時間反応させた。反応混合液を透析膜(分画分子量=12,000)を用いて0.1M酢酸ナトリウム緩衝液(pH4.5)中で3時間透析する。透析後析出した沈澱を濾過し濾液をADVANTEC UK-50(分画分子量=50,000)の限外濾過膜で限外濾過して、未反応のステアリルアミンやその他の低分子物質を除く。水洗と濃縮を繰り返し分子量50,000以上のミセル状態のステアリルアミン結合体を得た。凍結乾燥を行い201mgのステアリルアミン結合PEG-P(Asp.)-Acを得た。H-NMR分析によりPEG-P(Asp.)-Acのカルボキシル基の5%にステアリルアミンが結合していることを確認した。また凍結乾燥品を水に溶解してもミセル状態は良好で高い水溶性を示した。

【0034】

【発明の効果】本発明の(1)の高分子担体を用いた場

合、そのカルボキシル基に疎水性物質を結合させるに際し副反応を防止することができ、高い溶解性を有するミセル形成能の優れた(2)の薬物運搬体が容易に得られる。

---

フロントページの続き

(72)発明者 片岡 一則  
千葉県柏市大室1083-4、柏ビレジ141-9  
(72)発明者 岡野 光夫  
千葉県市川市国府台6-12-12  
(72)発明者 桜井 靖久  
東京都杉並区永福3-17-6  
(72)発明者 ▲勢▼藤 隆  
群馬県前橋市下川町45-3

(72)発明者 福島 重人  
群馬県高崎市岩鼻町239  
(72)発明者 町田 芽久美  
埼玉県深谷市上野台36-3  
(72)発明者 山田 好美  
群馬県多野郡新町1393-2  
(72)発明者 植原 隆治  
群馬県高崎市岩鼻町239